



**FACULDADE DE
MEDICINA DENTÁRIA
UNIVERSIDADE DO PORTO**

**ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**O PAPEL DA PLACA BACTERIANA CALCIFICADA NA
PALEOMICROBIOLOGIA**

Willian de Falco Martinelli

Dissertação de Investigação do Programa de Mestrado Integrado em Medicina Dentária
apresentado à Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Porto, 2017



**FACULDADE DE
MEDICINA DENTÁRIA
UNIVERSIDADE DO PORTO**

**ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**O PAPEL DA PLACA BACTERIANA CALCIFICADA NA
PALEOMICROBIOLOGIA**

Willian de Falco Martinelli

will_2151@hotmail.com

Dissertação de Investigação do Programa de Mestrado Integrado em Medicina Dentária
apresentado à Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Orientador

Inês Alexandra Costa de Moraes Caldas

(Professora Auxiliar com agregação da Faculdade de Medicina Dentária da
Universidade do Porto)

Coorientador

Maria Benedita Almeida Garrett de Sampaio Maia Marques

(Professora Auxiliar da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto)

Porto, 2017

Agradecimentos

À minha orientadora e coorientadora, Dr^a Inês Caldas e Dr^a Benedita Sampaio, por toda a paciência, disponibilidade, carinho, dedicação, sabedoria e simpatia que tiveram por mim ao longo do ano. Fico feliz e honrado por ter vocês duas como as professoras que me ajudaram a finalizar mais uma etapa da minha vida. Vocês contribuíram para mais um sonho realizado.

À minha mãe Eliana, a única pessoa que nunca desistiu de mim e sempre acreditou no meu potencial e sempre me dizendo: "sim, é possível, você consegue meu filho!".

Ao meu padraсто Paulinho, que tanto me incentivou e apostou em mim.

À minha avó Magaly, que mesmo não estando connosco, lá de cima ela esta me aplaudindo e sentindo muito orgulho de mim.

À Samyra e o Vinicius, que sempre me ajudou e incentivou desde quando cheguei em Portugal e na faculdade e que até hoje me ajuda em tudo e mais um pouco, no melhor e no pior.

À Milena, Ana, Débora, Alice, que todas sempre juntas comigo ajudando para que minha estadia aqui seja o mais agradável possível.

Aos amigos que fiz ao decorrer dos anos que estive na FMDUP, vocês foram muito importantes para mim.

À Deus, pois nada seria possível de finalizar essa etapa da minha vida sem minha fé Nele.

O meu muito obrigado a todos que participaram da minha vida diretamente ou indiretamente tanto dentro da instituição quanto fora dela. O meu mais sincero OBRIGADO.

Índice

Resumo.....	2
Abstract	3
Introdução	4
Material e Métodos	6
Desenvolvimento	7
Microbioma Oral.....	7
Cálculo Dentário	8
Cálculo Dentário na Pesquisa Arqueológica e Hábitos Alimentares	9
Conclusão	11
Referências Bibliográficas.....	12

Resumo

A paleomicrobiologia é uma disciplina emergente das ciências forenses, que visa a detecção, identificação e caracterização de microrganismos em cadáveres antigos ou mumificados. A paleomicrobiologia apresenta uma expansão e desenvolvimento consideráveis, graças aos avanços nos métodos de análise microbiana, em particular da sequenciação de nova geração, podendo permitir um acesso à evolução da história, tanto a em termos alimentares, como em termos de saúde humana. Atualmente, está a ser estudada a placa bacteriana calcificada em humanos, a qual é uma fonte abundante do microbioma oral antigo, pois observa-se a preservação de biomoléculas humanas e microbianas e também vestígios da dieta e do ambiente. A calcificação da placa bacteriana aprisiona microrganismos e restos alimentares. Investigações recentes mostraram que o microbioma humano desempenha um papel importante no balanço entre saúde e na doença. Assim, o estudo do microbioma oral ancestral poderá conter informações importantes para a reconstituição da história humana, realçando a importância do estudo do ecossistema microbiano, a sua diversidade e a sua função ao longo do tempo. Recorrendo ao estudo da placa bacteriana calcificada ancestral, arqueólogos e antropólogos, descobriram informações importantes sobre a evolução da microbiota oral revelando hábitos alimentares e estados de saúde da história humana.

O objetivo deste trabalho será a realização de uma revisão bibliográfica sobre o potencial informativo da placa bacteriana calcificada sobre a história da humanidade.

Palavras-chave:

“paleomicrobiology”, ancient DNA, “oral microbiome”, “dental calculus”, “archeological research”, “dental calculus archeological research”

Abstract

Paleomicrobiology is an emerging subject in the forensic sciences, which aims to detect, identify and characterize microorganisms in ancient or mummified corpses. Paleomicrobiology presents a considerable expansion and development, thanks to the advances in the methods of microbial analysis, in particular of the sequencing of new generation, being able to allow an access to the evolution of history, both in food terms and in terms of human health. Currently, calcified plaque in humans is being studied, which is an abundant source of the old oral microbiome, as it is observed the preservation of human and microbial biomolecules and also traces of diet and environment. Calcification of plaque entails microorganisms and food debris. Recent research has shown that the human microbiome plays an important role in the balance between health and disease. Thus the study of the ancestral oral microbiome may contain important information for the reconstitution of human history, emphasizing the importance of studying the microbial ecosystem, its diversity and its function over time. Using ancestral calcific plaque, archaeologists and anthropologists, they discovered important information about the evolution of the oral microbiota revealing eating habits and health states of human history.

The objective of this work will be the accomplishment of a bibliographical revision on the informative potential of calcified plaque on the history of humanity

Keywords:

"paleomicrobiology", ancient DNA, "oral microbiome", "dental calculus",
"archeological research", "dental calculus archeological research"

Introdução

De acordo com SAFERSTEIN (1995), foi determinado que a microbiologia forense é a aplicação dos estudos de microrganismos em investigações de provas legais em área de suspeita de crime, podendo ser associada na identificação humana, uma vez que na pele há uma inúmera quantidade de microrganismos de forma única em cada indivíduo, podendo haver assim um grande potencial para a uma identificação. Considerando que é um campo relativamente novo, a microbiologia forense pode ajudar nos casos como: ataque de bioterrorismo – utilização de bactérias ou vírus como arma biológica (BREEZE, 2005); negligência médica - ocorre quando há contaminação cruzada causada por médicos e/ou enfermeiros de pacientes com imunidade baixa, infectando com bactérias oportunistas; surtos de doenças por alimentos contaminados - a não fiscalização no processo de descontaminação e conservação dos alimentos causa o crescimento de patógenos prejudiciais aos seres humanos, ocasionando assim, o crime de atentado à saúde pública (SALYERS, 2003); crimes sexuais - ocorre na transmissão de doenças sexualmente transmissíveis (DST) e fluidos corporais.

CASSAB (2004) determinou que a paleontologia é a ciência que estuda restos de organismos há muito tempo desaparecidos, baseando-se em evidências: os fósseis. Trata-se, nos dias de hoje, de uma ciência que abrange a história da deriva continental, mudanças climáticas, evolução da fauna e flora e extinções em massa ocorridas ao longo do tempo geológico, contribuindo também, para o entendimento da origem e evolução da vida na terra, referenciando ainda, à composição da atmosfera e à geografia (CASSAB, 2004). A paleontologia é uma ciência de extrema importância, pois sem ela o passado dos seres vivos de antigamente seria desconhecido (ANELLI, 2002). Estando o mundo em constante evolução, os registros fósseis estudados com mais de bilhões de anos, possibilitam a compreensão e explicação da diversidade, afinidade e distribuição geográfica dos grupos biológicos atuais (SOARES, 2010).

A peleomicrobiologia é uma área crescente (DRANCOURT M., RAOULT D., 2005), revelando que o DNA microbiano pode permanecer em depósitos antigos com o potencial para descobrir e reconstruir a migração e interação humana (DOMINGUEZ-BELLO MG, BLASER MJ., 2011). Ela vem descobrindo que o cálculo dentário como fonte biomolecular de alta qualidade (ADLER CJ ET AL. 2013) e contendo células bacterianas calcificadas (DOBNEY K, BROTHWELL D. 1988) vem nos dando dados para que possa ser estudado a saúde humana tanto atual, como no passado

(LEDERBERG J, 2001 E PALLEN MJ, 2007). Através dos dados arqueológicos apresentam uma abordagem de investigação da ecologia e evolução microbiana oral.

O objectivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica para avaliar o potencial informativo da placa bacteriana calcificada na história da evolução humana.

Material e Métodos

Procedeu-se a uma revisão da literatura usando as bases de dados PUBMED e Google Scholar, utilizando as seguintes palavras-chave: “paleomicrobiology”, ancient DNA, “oral microbiome”, “dental calculus”. Foram critérios de inclusão artigos, com texto completo, em português e inglês. Foram cumpridos os critérios de inclusão e exclusão de artigos, para que de forma a revisão bibliográfica seja construída visando a detecção, identificação e caracterização de microrganismos em cadáveres antigos ou mumificados. Os trabalhos foram lidos e apenas selecionados de acordo com a relevância do tema.

Foram encontrados artigos relacionados com o tema original, todos recentes, porém foram incluídos também, artigos relacionados a Paleontologia e as Ciências forenses de forma geral. Foram excluídos os artigos de acordo com seu título e resumo que não tinha ligação com o tema. No final foram obtidos 34 artigos.

Desenvolvimento

Microbioma Oral

O microbioma oral apresenta diversos tipos de microrganismos, nomeadamente bactérias, fungos, vírus e protozoários, constituindo um reservatório de contágio. Em uma microbiota normal, esses microrganismos encontram-se em harmonia com o hospedeiro e com uma função extremamente importante para a proteção de patógenos externos auxiliando também no sistema imunológico mucoso e sistêmico. Contudo, as alterações ambientais, alimentares, sistêmicas, e os antibióticos, podem acabar desarmonizando e causando a manifestação de doenças quer orais quer sistêmicas. Atmosferas anaeróbia e aeróbia, variações de pH, características anatômicas diversas facilitam a formação de biofilmes orais complexos, deixam a cavidade oral com uma comunidade polimicrobiana muito diversa. Em biofilme, os microrganismos dificultam a defesa e proteção do hospedeiro, facilitando a comunicação intermicrobiana. Portanto, para que esse biofilme não se acumule, é muito importante ter uma higiene oral de boa qualidade, associando a escovagem, o uso de fio dental, colutório bucal e visitas regulares ao dentista, podendo assim diminuir em até 70% da incidência de doenças bucais e sistêmicas

(<http://www.microbiologia.ufrj.br/portal/index.php/pt/destaques/novidades-sobre-a-micro/296-microbiota-oral-x-saude>).

Como referido anteriormente, o microbioma oral é altamente diverso, personalizado e regulado pelas condições orais, mas também sistêmicas (TURNBAUGH, P.J., 2012 E S.L. LEAKE, 2016). Assim, o microbioma oral pode fornecer informações úteis sobre o estado de saúde individual, sobre deficiências nutricionais ou sobre várias doenças crônicas e agudas orais ou sistêmicas. Portanto, é possível assumir que o microbioma oral reflete o equilíbrio entre saúde e doença do hospedeiro.

A descoberta recente que o microbioma humano é altamente personalizado abre novas possibilidades ao desenvolvimento de ferramentas forenses. Por exemplo, nas agressões, designadamente nos crimes sexuais, pode ocorrer contacto oral sob a forma de mordida. Atualmente, as técnicas para a identificação do perpetrador incluem o exame físico das marcas de mordida, o qual envolve também a pesquisa na pele da vítima de DNA do agressor. No entanto, nem sempre é possível uma identificação

positiva, sendo a extração e a obtenção de perfis de DNA humano de amostras forenses muitas vezes mal sucedida devido à contaminação e degradação do material genético (HINCHLIFFE, J., 2011 E SHEASBY, D.R., 2001) . Estes fatores salientam a importância da investigação de métodos alternativos na identificação forense, nomeadamente quando o ocorre contacto oral entre a vítima e o agressor.

As marcas de mordida são geralmente classificadas como sendo lesão produzida pelos dentes e/ou animais (OLIVEIRA, D. C. A. ET. AL., 2010) e são vistas com mais frequência em casos de agressão sexual, assassinato e abuso de menores e pode ser um fator importante para levar a uma condenação. SHEASBY, D. R. e MACDONALD D. G. (2001) definiram que a marca de mordida é causada pelos dentes e ou por outros componentes da boca. Pode haver uma ou mais características causadas por um ou mais dentes e assim podemos classifica-las como: corte, abrasão, laceração, hematomas ou contusões. (DAILEY, J. C. E BRAWERS, C. M. 1997; BELL, K., 2000)

A definição de marca de mordida, consiste em uma lesão semicircular que compreende dois arcos separados, com uma área central sem evidência de lesão ou com uma área central de contusão devido a pressão exercida pelas peças dentárias, lábios e língua. De acordo com a ABFO (American Board of Forensic Odontology) esta pode ser causada pelo contato de dentes com ou sem língua, mostrando o padrão de representação das estruturas orais (PRETTY, I. A., 2008)

Para a medicina dentária forense, é um desafio fazer o reconhecimento de um agressor através da mordida, pois há uma certa dificuldade em fazer o registo e análise dessa marca de mordida na pele humana pelo fato da sua constituição, seus tecidos adjacentes e uma possível movimentação do agressor ou da vítima. A marca de mordida deve não só ser analisada como uma prova física, mas também como uma prova biológica pois pode deixar vestígios de genoma do hospedeiro, humano ou microbiológico. (Sweet, D., 2005; Borgula, L.M., 2003; Gill, P., 2000)

Cálculo Dentário

Os constituintes salivares possuem uma vasta gama de funções, incluindo a homeostase de cálcio oral. Há proteínas salivares que inibem a formação de cristais de fosfato de

cálcio em soluções supersaturadas e interação com várias bactérias orais para adsorver em hidroxiapatita. Ao mesmo tempo, a saliva, que é supersaturada em relação aos fosfatos de cálcio, é a força motriz para a mineralização da placa e a formação do cálculo (PATEEL ET. AL. 2017). De acordo com AFSHAR ET AL. 2016, os fatores anatômicos e salivares podem ser um dos motivos relevantes para as diferenças na formação do cálculo dentário.

O cálculo dental, de uma forma simplificada, é uma placa mineralizada que se deposita nas superfícies dos dentes, constituído principalmente por sais minerais de fosfato de cálcio depositados entre e dentro de restos de microrganismos. Contudo, o cálculo dental é também formado por microrganismos vivos que se alojam nas superfícies irregulares do dente. A forma inicial e mais agressiva é a placa bacteriana, constituída também por inúmeros microrganismos que se alojam tanto na face dentária quanto periodontal, podendo sim, causar perda de osso e até mesmo a perda do dente. A placa bacteriana e a inflamação gengival juntas, ajudam na formação do cálculo dental. Como exemplo, temos a forma mais comum que é o cálculo supragengival, geralmente encontrado próximo de glândulas salivares *major*,. (ADDE ET. AL. 1990)

Cálculo Dentário na Pesquisa Arqueológica e Hábitos Alimentares

Tendo em conta que o cálculo dentário é um biofilme bacteriano calcificado que se forma nas superfícies dos dentes pode, assim, tornar-se um registo em camadas da história de vida humana específica para cada hospedeiro. (WARINNER C1, 2015)

As análises de cálculos dentários de esqueletos humanos europeus pré-históricos, que datam de antes do período mesolítico até o período medieval, denotam que a cavidade oral serviu há muito como reservatório de microrganismos (ADLER CJ, 2012) . A transição na história do Homem de caçador para a agricultor mudou a comunidade microbiana oral para uma microbiota menos diversa. Pensa-se hoje que essa alteração poderá ter contribuído para o aumento das doenças crônicas orais e sistêmicas na vida pós-industrial.

Assim, desvendar o perfil de microbioma de cálculos dentários ao longo da história humana abriu novos caminhos para encontrar marcadores de stress ao longo da vida na paleopatologia, nomeadamente em doenças orais ou sistêmicas ou mudanças na dieta (WEYRICH LS1, 2017 E WARINNER C1, 2014). Pensa-se que as mudanças no perfil do microbioma do cálculo dentário podem sugerir possíveis eventos de stress individuais. Além disso, certas espécies microbianas podem representar marcadores específicos de doença oral ou sistêmica. Por exemplo, a detecção de infecções persistentes do vírus da hepatite C (HCV) na polpa dentária é considerado uma nova abordagem para a detecção de infecções passadas (SIRAVENHA LG, 2016). Outros microrganismos têm sido estudados como possíveis marcadores de doenças pré-históricas (SIRAVENHA LG, 2016 E MEGRAUD F, ET AL., 2015).

Dados genômicos recentes revelaram interligações múltiplas entre os Neandertais e humanos modernos, mas atualmente há poucas evidências genéticas quanto ao comportamento, dieta ou doença dos Neandertais. Foram descritas sequências de DNA antigo e a partir de cinco espécimes de placa dentária calcificada de Neandertais (cálculo dentário) e a caracterização de diferenças regionais na ecologia do Neandertal. Na caverna Spy, na Bélgica, a dieta dos Neandertais era fortemente baseada em carne e incluía rinoceronte e ovelha selvagem, característica de um ambiente de estepe. Em contrapartida, não foi detectada carne na dieta de Neandertais da caverna El Sidrón, Espanha, mas sim componentes alimentares como cogumelos, pinhões e musgo encontrados na floresta. As diferenças na dieta também foram relacionadas com uma mudança geral na comunidade bacteriana oral (microbiota) e sugeriu que o consumo de carne contribuía para variações substanciais na microbiota dos Neandertais. Evidências de automedicação foram encontradas nos Neandertais em El Sidrón com abscessos dentários e patógeno gastrointestinal crônico (*Enterocytozoon bieneusi*). Os dados metagenômicos deste indivíduo também continham um genoma quase completo do *Methanobrevibacter oralis* comensal arcaico. O DNA preservado dentro do cálculo dentário representa uma fonte notável de informações sobre o comportamento e a saúde das espécies de homínidos antigos, bem como um sistema exclusivo que é útil para o estudo da evolução microbiana a longo prazo (WEYRICH LS ET. AL. 2017).

Conclusão

Como uma área nova, a Paleomicrobiologia vem tendo muito sucesso com seus avanços, proporcionando importantes resultados nessa área. Com tempo e tecnologia adequada poderemos recuperar importantes patógenos epidêmicos que deram início as pandemias históricas e paleopatologias específicas. Estudos recentes revelaram que o cálculo dentário é um importante reservatório de antigos microbiomas orais humanos, proporcionando a oportunidade de examinar a saúde humana, dieta, estilo de vida e meio ambiente durante a evolução humana. Embora ainda muito recente, a Paleomicrobiologia vem crescendo e cada vez mais chegando perto dos primórdios do seu microbioma e fornecendo uma diferente visão sobre a evolução, movimento e morte de sociedades antigas. Embora o estudo antropológico e arqueológico do cálculo dental vem avançando para as últimas três décadas, a mudança de paradigma iniciado através da investigação do DNA antigo está em curso, permitindo os pesquisadores abordarem questões-chave e criando novas.

Referências Bibliográficas

1. - SAFARSTAIN, R. (Edit) *Criminalistics – An introduction to Forensic Science*, fifth edition. New Jersey: Prattice Hall Education, 1995.
2. BREEZE, R.G., BUDOWLE, B., WILSON, M.R., BURANS, J.P., CHAKRABORTY, R. *Microbial Forensic*, 1ª Edition. New York: Academic Press, 2005 Cap.1 p. 1-17.
3. SALYER, A. A. *Microbes in Court: The emerging Field of microbial forensic*. (2003)
Disponível na URL:
4. <http://microbiologiaforense.blogspot.pt/2010/04/microbiologia-forense-conceitos.html>
5. CASSAB, Rita de Cassia Tardin. *Objetivos e Princípios*. In: CARVALHO, Ismar de Souza. *Paleontologia*. 2. ed. Rio de Janeiro, Interciência, 2004. p. 1-11.
6. ANELLI, Luiz Eduardo. *O passado em suas mãos: guia para coleção de réplicas*. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002
7. SOARES, Marcelo. *Paleontologia*. Rio de Janeiro: UCB, 2010, p. 23.
8. <http://www.sbenbio.org.br/wordpress/wp-content/uploads/renbio-9/pdfs/2732.pdf>
9. Drancourt M, Raoult D. 2005 *Palaeomicrobiology: current issues and perspectives*. *Nat. Rev. Microbiol.* 3, 23 – 35. (doi:10.1038/nrmicro1063)
10. Dominguez-Bello MG, Blaser MJ. 2011 *The human microbiota as a marker for migrations of individuals and populations*. *Annu. Rev. Anthropol.* 40, 451– 474. (doi:10.1146/annurev-anthro-081309-145711)
11. Adler CJ et al. 2013 *Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and Industrial revolutions*. *Nat. Genet* 45, 450 – 455. (doi:10.1038/ng.2536)
12. Dobney K, Brothwell D. 1988 *A scanning electron microscope study of archaeological dental calculus*. In *Scanning electron microscopy in archaeology*, BAR International Series, vol. 452 (ed. S Olsen), pp. 372– 385. Oxford, UK: BAR
13. Lederberg J, McCray AT. 2001 *'Ome sweet 'omics— a genealogical treasury of words*. *Scientist* 15, 8.
14. Pallen MJ, Wren BW. 2007 *Bacterial pathogenomics*. *Nature* 449, 835– 842. (doi:10.1038/nature06248)
15. Fioravanti C, Frustaci I, Armellini E, Condo R, Arcuri C, Cerroni L. *Autologous blood preparations rich in platelets, fibrin and growth factors*. *ORAL & implantology*. 2015;8(4):96-113. Epub 2017/01/04.
16. (<http://www.microbiologia.ufrj.br/portal/index.php/pt/destaques/novidades-sobre-a-micro/296-microbiota-oral-x-saude>)
17. Int J Dent. 2017;2017:2857629. doi: 10.1155/2017/2857629. Epub 2017 May 10. *Correlation of Salivary Statherin and Calcium Levels with Dental Calculus Formation: A Preliminary Study*.
Pateel DGS1, Gunjal S2, Math SY3, Murugeshappa DG4, Nair SM5.
18. J Dent Child (Chic). 2016;83(1):3-8. *Role of Anatomic and Salivary Factors in Dental Calculus Formation in Primary and Mixed Dentition Stages*.

- Afshar H1, Ghandehari M1, Khorsand A2, Ansari G3, Nahvi A4, Baniamერი Z5.
18. (Nature. 2017 Apr 20;544(7650):357-361. doi: 10.1038/nature21674. Epub 2017 Mar 8. Neanderthal behaviour, diet, and disease inferred from ancient DNA in dental calculus. Weyrich LS1, Duchene S2, Soubrier J1, Arriola L1, Llamas B1, Breen J1, Morris AG3, Alt KW4,5,6,7, Caramelli D8, Dresely V5,6, Farrell M9, Farrer AG1, Francken M10, Gully N11, Haak W1, Hardy K12,13, Harvati K10, Held P14, Holmes EC2, Kaidonis J11, Lalueza-Fox C15, de la Rasilla M16, Rosas A17, Semal P18, Soltysiak A19, Townsend G11, Usai D20, Wahl J21, Huson DH22, Dobney K23,24,25, Cooper A1.
19. Pretty, I. A. (2008). Forensic Dentistry: Bite marks and bite injuries. Dental update, 35, pp. 48-61
20. Oliveira, D. C. A. et. al. (2010). Evaluation of bite marks made by dental prostheses in food. Arquivos em odontologia, 46(1), pp. 38-42
21. Bell, K. (2000). Identification and documentation of bite marks. Jornal of emergency nursing, 26(6), pp. 628-630
22. Dailey, J. C. e Browers, C.M. (1997). Aging of bitemarks: a literature review. Jornal of forensic sciences, 42(5), pp. 792-795
23. Sheasby, D. R. e Macdonald D. G. (2001). A forensic classification of distortion on human bite marks. Forensic Science international, 122(1), pp. 75-78
24. Turnbaugh, P.J., M. Hamady, T. Yatsunenko, B.L. Cantarel, A. Duncan, R.E. Ley, M.L. Sogin, W.J. Jones, B.A. Roe, J.P. Affourtit, M. Egholm, B. Henrissat, A.C. Heath, R. Knight, and J.I. Gordon, A core gut microbiome in obese and lean twins. Nature, 457(7228): 480-4, 2009. The_Human_Microbiome_Project_Consortium, Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature, 486: 207-214, 2012. - S.L. Leake, M. Pagni, L. Falquet, F. Taroni, G. Greub, The salivary microbiome for differentiating individuals: proof of principle, Microbes and Infection (2016), doi: 10.1016/j.micinf.2016.03.011.
25. Sheasby, D.R. and D.G. MacDonald, A forensic classification of distortion in human bite marks. Forensic Science International, 122(1): 75-8, 2001. Hinchliffe, J., Forensic odontology, part 4. Human bite marks. British dental journal, 210(8): 363-8, 2011.
26. Sweet, D., Bitemarks as biological evidence, in Bitemark Evidence, R. Dorian, Editor 2005, Marcel Dekker: New York. p. 183-201.
27. Borgula, L.M., F.G. Robinson, M. Rahimi, K.E. Chew, K.R. Birchmeier, S.G. Owens, J.A. Kieser, and G.R. Tompkins, Isolation and genotypic comparison of oral streptococci from experimental bitemarks. The Journal of forensic odonto-stomatology, 21(2): 23-30, 2003.
28. Gill, P., J. Whitaker, C. Flaxman, N. Brown, and J. Buckleton, An investigation of the rigor of interpretation rules for STRs derived from less than 100 pg of DNA. Forensic Science International, 112(1): 17-40, 2000
29. Warinner C1, Speller C2, Collins MJ2. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2015 Jan 19;370(1660):20130376. doi: 10.1098/rstb.2013.0376. A new era in palaeomicrobiology: prospects for ancient dental calculus as a long-term record of the human oral microbiome.
30. Adler CJ1, Dobney K, Weyrich LS, Kaidonis J, Walker AW, Haak W, Bradshaw CJ, Townsend G, Soltysiak A, Alt KW, Parkhill J, Cooper A. Nat Genet. 2013 Apr;45(4):450-5, 455e1. doi: 10.1038/ng.2536. Epub 2013 Feb 17. Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and Industrial revolutions.
31. Weyrich LS1, Duchene S2, Soubrier J1, Arriola L1, Llamas B1, Breen J1, Morris AG3, Alt KW4,5,6,7, Caramelli D8, Dresely V5,6, Farrell M9, Farrer AG1, Francken M10, Gully N11, Haak W1, Hardy K12,13, Harvati K10, Held P14, Holmes EC2, Kaidonis J11, Lalueza-Fox C15, de la Rasilla M16, Rosas A17, Semal P18, Soltysiak A19, Townsend G11, Usai D20, Wahl J21, Huson DH22, Dobney K23,24,25, Cooper A1. Neanderthal behaviour, diet, and disease inferred from ancient DNA in dental calculus. Nature. 2017 Apr 20;544(7650):357-361. doi: 10.1038/nature21674. Epub 2017 Mar 8.

32. Warinner C1, Rodrigues JF2, Vyas R2, Trachsel C3, Shved N4, Grossmann J3, Radini A5, Hancock Y6, Tito RY7, Fiddyment S8, Speller C8, Hendy J8, Charlton S8, Luder HU9, Salazar-García DC10, Eppler E11, Seiler R4, Hansen LH12, Castruita JA13, Barkow-Oesterreicher S3, Teoh KY8, Kelstrup CD14, Olsen JV14, Nanni P3, Kawai T15, Willerslev E13, von Mering C2, Lewis CM Jr7, Collins MJ8, Gilbert MT16, Rühli F17, Cappellini E18. Pathogens and host immunity in the ancient human oral cavity. *Nat Genet.* 2014 Apr;46(4):336-44. doi: 10.1038/ng.2906. Epub 2014 Feb 23.
33. Siravenha LG, Siravenha LQ, Madeira LDP, Oliveira-Filho AB, Machado LFA, Martins Feitosa RN, et al. (2016) Detection of HCV Persistent Infections in the Dental Pulp: A Novel Approach for the Detection of Past and Ancient Infections. *PLoS ONE* 11(10): e0165272. doi:10.1371/journal.pone.0165272 Barbier M, Wirth T. 2016. The evolutionary history, demography, and spread of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Microbiol Spectrum* 4(4):TBTB2-0008-2016. doi:10.1128/microbiolspec.TBTB2-0008-2016.
34. Megraud F, et al., The history of *Helicobacter pylori*: from phylogeography to paleomicrobiology, *Clinical Microbiology and Infection* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2016.07.013> *Microbes Infect.* 2015 Nov-Dec;17(11-12):879-83. doi: 10.1016/j.micinf.2015.09.002. Epub 2015 Sep 11. Paleomicrobiology of *Bartonella* infections. Fournier PE1, Drancourt M2, Aboudharam G2, Raoult D2.



FACULDADE DE
MEDICINA DENTÁRIA
UNIVERSIDADE DO PORTO

DECLARAÇÃO

Monografia de investigação/Relatório de Atividade Clínica

Declaro que o presente trabalho, no âmbito da Monografia de Investigação/Relatório de Atividade Clínica, no Mestrado Integrado em Medicina Dentária, da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto, é da minha autoria e todas as fontes foram devidamente referenciadas.

Porto, 06 de Julho de 2017

O Investigador

Willian de Falco Martinelli

PARECER
(Entrega do trabalho final de Monografia)

Informo que o Trabalho de Monografia desenvolvido pelo(a)
Estudante William de Fátima Martins
com o título: O Papel da placa bacteriana na etiologia da cárie,
está de acordo com as regras estipuladas na FMDUP, foi por mim conferido e
encontra-se em condições de ser apresentado em provas públicas.

20/7/07/06

O(A) Orientador(a)

Tina Regina Costa